

**N-Acetyl-Beta-Glucosaminidase-Aktivität
im Serum und Urin von Patienten mit Diabetes mellitus.
Beziehung zur diabetischen Retinopathie.**

Karl-Heinz Roßmann

Disbui. München

1987



Aus der Medizinischen Poliklinik der Universität München

Vorstand: Prof.Dr.N.Zöllner

N-Acetyl-Beta-Glucosaminidase-Aktivität im Serum und Urin
von Patienten mit Diabetes mellitus.
Beziehung zur diabetischen Retinopathie.

Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Karl-Heinz Roßmann

aus

Waidhaus

Jahr

1987

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. F.- D. Goebel

Mitberichterstatter: Prof. Dr. N. Zöllner

Mitbetreuung durch den
promovierten Mitarbeiter:

Dekan: Prof. Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 05.11.1987

Inhaltsverzeichnis

	Seite
1. Einleitung	6
2. Material, Patienten und Methoden	
2.1. Materialien	9
2.2. Patientenauswahl	9
2.3. Aktivitätsmessung der N-Acetyl-Beta-Glucosaminidase	10
2.3.1. Serum NAGA-Aktivität	10
2.3.2. Urin NAGA-Aktivität	11
2.4. Herstellung der Versuchssubstanzen	11
2.5. Ermittlung der Standardkurve	11
2.6. Flourimetrische Messung	12
2.7. Berechnung der Aktivitäten	
2.7.1. Serum NAGA-Aktivität	13
2.7.2. Urin NAGA-Aktivität	14
2.8. Weitere gemessene Parameter und Bestimmungsmethoden	15
3. Ergebnisse	
3.1. NAGA-Aktivität in verschiedenen untersuchten Patientengruppen	
3.1.1. Serum	16
3.1.2. Urin	16
3.2. Korrelation der NAGA-Aktivität im Serum und Urin	17
3.3. Korrelation der Serum und Urin NAGA-Aktivität zu anderen Parametern	
3.3.1. Serum NAGA-Aktivität und andere Parameter	17
3.3.2. Urin NAGA-Aktivität und andere Parameter	18

3.4.	Betrachtung verschiedener zu der Höhe der Serum oder Urin NAGA-Aktivität korrelierender Parameter	
3.4.1.	Retinopathie	18
3.4.2.	Blutzuckerkonzentration	19
3.4.3.	HbA1	19
3.4.4.	Serumcholesterin	20
3.4.5.	Serumtriglyzeride	20
3.4.6.	Serumkreatinin	20
3.5.	Schweregrad der diabetischen Retinopathie im Vergleich zu einigen anderen Parametern	21
4.	Diskussion	22
5.	Zusammenfassung	27
6.	Standardkurve	28
7.	Tabellen und Abbildungen	29
8.	Literaturverzeichnis	48
9.	Anhang	59

1. Einleitung

Patienten mit Diabetes mellitus erreichen heute durch konsequente und verbesserte Behandlung ein wesentlich höheres Lebensalter als früher. Diese positive Entwicklung erhöht andererseits aber auch die Wahrscheinlichkeit für das Auftreten von diabetischen Spätfolgen, insbesondere der diabetischen Retino- und Nephropathie, als deren Hauptursache allgemein die diabetische Mikroangiopathie angesehen wird. Um diese häufigen und schwerwiegenden Komplikationen des Diabetes mellitus zu verhindern und um ihre Behandlung zu verbessern erscheint es sehr wichtig den Mechanismus der Entstehung der diabetischen Mikroangiopathie zu erforschen. Ein wesentliches Merkmal der diabetischen Mikroangiopathie ist die Verdickung der kapillaren Basalmembran. Diese Verdickung ist Folge einer Einlagerung von Glycoproteinen und Mucopolysacchariden und scheint ihre Ursache in einem gestörten Metabolismus der Glycoproteine und Mucopolysaccharide zu haben (19,59,9,44). Der Abbau von Mucopolysacchariden und Glycoproteinen erfolgt in den Lysosomen, gesteuert durch die Aktivität der Glycosidasen (33). Je nach Art der in den Glycoproteinen und Mucopolysacchariden gebundenen Zuckermoleküle, ist für den Abbau eine bestimmte Glycosidase verantwortlich. Drei wichtige Glycosidasen sind Beta-Glucoronidase, Beta-Galaktosidase sowie N-Acetyl-Beta-Glucosaminidase (NAGA). Wir beschränken uns in dieser Arbeit auf die Aktivitätsmessung der NAGA, deren Substrat Glucosamin ist, ein bedeutsamer und häufiger Anteil verschiedenster Glycoproteine und Mucopolysaccharide. Die Einlagerung von Glycoproteinen und Mucopolysacchariden

in die Gefäße von diabetischen Patienten könnte durch eine verminderte Aktivität des Enzyms NAGA bedingt sein (2). Die NAGA wird wie fast alle lysosomalen Enzyme von Zellen bestimmter Gewebe sezerniert. Die Aktivität des Enzyms kann bei Tieren und Menschen im Gewebe, Blut und Urin mit Hilfe der Fluoreszenzphotometrie gemessen werden (54,64).

Erhöhung der Serum NAGA-Aktivität konnte bei verschiedenen Krankheiten, wie chronischen Lebererkrankungen, Myokardinfarkt, Atherosklerose und malignen Tumoren beobachtet werden (3,64). Ebenso konnte eine Erhöhung bei Patienten mit systemischen Lupus Erythematoses, wie auch eine Freisetzung des Enzyms durch Monozyten bei Patienten mit chronisch-entzündlichen Erkrankungen festgestellt werden (28). Die Aktivität der NAGA im Urin wird ebenfalls durch verschiedenste Erkrankungen beeinflusst. So konnte eine Erhöhung der Urin NAGA-Aktivität bei einigen Nierenerkrankungen, wie akute und chronische Glomerulonephritis, nephrotischem Syndrom und Schock dargelegt werden (14,15,31,57). Mehrere in den letzten Jahren erschienene Arbeiten berichten über eine erhöhte Aktivität der Serum und Urin NAGA bei Diabetes mellitus. So zeigten Belfiore und Mitarbeiter 1972 bei Patienten mit Diabetes mellitus deutlich erhöhte Durchschnittsaktivität gegenüber einer stoffwechselgesunden Kontrollgruppe (4). Auch in nachfolgenden Arbeiten konnte dieses Ergebnis immer bestätigt werden (10,11,44,60). Uneinigkeit schien zu bestehen, was den Zusammenhang zwischen Höhe der NAGA-Aktivität und dem Auftreten einer diabetischen Retinopathie betraf; wie auch über die Korrelation von NAGA-Aktivität und Höhe der Blutzuckerkonzentration verschiedenste Ergebnisse veröffentlicht wurden. Pitkänen und Mitarbeiter, und auch andere Autoren, konnten eindeutige Zusammenhänge zwischen Höhe der

NAGA-Aktivität und Retinopathie bzw. Blutzuckerkonzentration darlegen (11,44,22). In einer anderen Studie wurde zwar eine Korrelation zur diabetischen Retinopathie gefunden, allerdings keine zur Höhe des Blutzuckers (60). Keinerlei Zusammenhang zwischen NAGA-Aktivität und Retinopathie bzw. Blutzuckerkonzentration fanden Miralles und Mitarbeiter in einer 1982 veröffentlichten Arbeit. Aber auch sie berichten über eine signifikante Erhöhung der NAGA-Aktivität bei Patienten mit Diabetes mellitus gegenüber einer Kontrollgruppe (39). Tierexperimentelle Untersuchungen an Ratten mit künstlich erzeugtem Diabetes haben ebenso gezeigt, daß die Aktivität der N-Acetyl-Beta-Glucosaminidase im Serum und Urin erhöht ist. Bemerkenswert erscheint in diesem Zusammenhang noch, daß die Aktivität im Nierengewebe der Ratten, ansonsten ein Ort hohen Enzymgehalts, deutlich reduziert war (21).

Ziel unserer Untersuchung war es, die NAGA-Aktivität im Serum und Urin mit stoffwechselgesunden Probanden zu vergleichen. Außerdem sollte die Frage geklärt werden, ob zwischen der NAGA-Aktivität im Serum und Urin eine Korrelation besteht, d.h. ob die erhöhte Aktivität im Urin durch glomeruläre Filtration des Enzyms aus dem Blutstrom oder durch Freisetzung seitens glomerulärer oder tubulärer Zellen in den Harn, bewirkt wird. Ferner sollte untersucht werden, ob eine Beziehung der Serum oder Urin-Aktivität zur Diabetesdauer, zum Lebensalter, zur diabetischen Retinopathie, zur Blutzuckerkonzentration und zur Stoffwechsellage, gemessen durch den HBA1-Wert, besteht.

2. Material, Patienten und Methoden

2.1 Materialien

Citrat-Phosphat Puffer und Glycin-NaOH Puffer wurden selbst hergestellt. Zitronensäure, Natriumhydrogenphosphat, Natriumchlorid und Glycinsäure hierfür stammen von der Firma Boehringer Mannheim. Ebenso das Kit zur Kreatininbestimmung im Urin.

4-Methylumbelliferon (4-MU) wurde von der Firma Serva Feinchemica Heidelberg bezogen. Die Firma Paesel GmbH lieferte 4-Methylumbelliferyl-2-acetoamido-2-desoxy- β -D-Glucopyranosid (MUG).

2.2. Patientenauswahl

Untersucht wurden Patienten der Stoffwechselambulanz der Medizinischen Poliklinik der Universität München, die dort regelmäßig zur Kontrolle erschienen. Die Kontrollwerte stammen von Studenten und von stoffwechselgesunden Patienten der Poliklinik.

Insgesamt wurden die Serum- und Urin-Aktivitäten von 86 Personen untersucht. Hiervon waren 44 Patienten wegen Diabetes mellitus in Behandlung. Ihr Durchschnittsalter betrug 63 ± 9 Jahre (männlich 23, Alter 63 ± 10 Jahre; weiblich 21, Alter 63 ± 8 Jahre). Die Vergleichswerte erhielten wir von 32 stoffwechselgesunden, nicht nierenkranken Probanden, mit einem Durchschnittsalter von 57 ± 13 Jahren (männlich 17, Alter 54 ± 14 Jahre; weiblich 15, Alter 60 ± 12 Jahre).

Desweiteren wurde noch die NAGA-Aktivität von 10 Patienten mit Niereninsuffizienz unterschiedlicher Genese bestimmt. Als Niereninsuffizient wurden Patienten eingestuft, deren Serum-Kreatininwerte größer als 1,5 mg% waren und zugleich eine signifikante Protein-

urie aufwiesen. Ihr Durchschnittsalter betrug 69 ± 13 Jahre (männlich 6, Alter 74 ± 10 Jahre; weiblich 4, Alter 60 ± 11 Jahre). Von allen an Diabetes erkrankten Patienten wurden Mehrfachbestimmungen durchgeführt, die sich jedoch nicht signifikant unterschieden. Von den Mehrfachbestimmungen wurden jeweils die Proben mit der mittleren Aktivität in das Patientenkollektiv aufgenommen.

2.3 Aktivitätsmessung der N-Acetyl-Beta-Glucosaminidase

Die Aktivität der NAGA im Serum wurde nach der flourimetrischen Methode von Whiting und Mitarbeitern (60), im Urin nach der Methode von Dance (13) bestimmt. Als Substrat diente MUG, von welchem durch die NAGA 4-MU abgespalten wird, das flourimetrisch bestimmt werden kann.

2.3.1. Serum NAGA-Aktivität

Ein Gemisch von 1,0 ml bestehend aus: 0,1 ml Serum (1:1 mit NaCl verdünnt), 0,4 ml Citrat-Phosphat Puffer (p.H 4.3; 0.05 M) und 0,5 ml MUG (1mmol/l) wurde für 20 Minuten bei 37°C inkubiert. Die Reaktion wurde durch Zugabe von 2,0 ml Glycin-NaOH Puffer (pH 10.4; 0,5 M) gestoppt. Die Menge des freigesetzten 4-MU wird am Fluoreszenz-Photometer bei 360 nm (Excitation) und 440 nm (Emission) gemessen.



2.3.2. Urin NAGA-Aktivität

Urin NAGA-Aktivitäten wurden in einem Gemisch von 2,0 ml das: 0,1 ml Urin, 0,9 ml Citrat-Phosphat Puffer (pH 4,3; 0,1 M) und 1,0 ml MUG (2 mmol/l) enthielt, gemessen. Inkubiert wurde 30 Minuten bei 37°C, die Reaktion mit 3,0 ml Glycin-NaOH Puffer gestoppt (pH 10.4; 0,5 M). Das freigesetzte 4-MU wird wie beim Serum-Enzym Ansatz bei gleicher Excitation und Emission gemessen.

2.4 Herstellung der Versuchssubstanzen

Puffer und Substrat wurden vor jeder Versuchsreihe frisch angesetzt.

Urine wurden unmittelbar nach Abgabe tiefgefroren und bei -30°C gelagert. Seren wurden nach Zentrifugation ebenfalls bei -30°C aufbewahrt.

Als Kontrollwert diente bei jeder Meßreihe Urin und Serum eines gesunden Probanden. Sie wurden in kleinen Portionen tiefgefroren und bei jeder Meßung mitbestimmt. Hier zeigte sich, daß selbst nach 6 Monaten die Aktivität in den tiefgefrorenen Proben konstant blieb.

2.5 Ermittlung der Standardkurve

Die Standardkurve wurde anhand einer Reihenverdünnung von 4-MU mit bekannten Konzentrationen erstellt. Die Linearität der Kurve ist im Bereich der MU-Konzentration von 0,1 nmol/ml bis 5 nmol/ml gegeben. Vor Beginn der Messungen wurde durch verschiedene Proben sichergestellt daß sich die Aktivität im Bereich der oben erwähnten Konzentrationsgrenzen befand. Ebenfalls wurde vor jeder

Meßreihe eine neue Standardkurve erstellt, um Schwankungen, etwa durch Verwendung verschiedener Küvetten, auszuschalten. Es fanden sich jedoch nahezu identische Kurven bei allen Meßreihen. Abbildung 1 zeigt die von uns, auf oben angesprochene Weise, ermittelte Standardkurve.

2.6 Flourimetrische Messung

Gemessen wurde die Transmission der Proben an einem Eppendorf Photometer mit Fluoreszenz-Aufsatz bei einer Excitation von 360 nm und einer Emission von 440 nm. Gemessen wurde jeweils erst nach einer Einlaufzeit des Photometers von 30 Minuten. Vor jeder Meßreihe wurde durch eine Probe bestehend aus Glycin-NaOH Puffer, Citrat-Phosphat Puffer und MUG ein Leerwert ermittelt und am Photometer auf Null geeicht. Benützt wird für jede Meßreihe dieselbe Glasküvette mit der Schichtdicke von 1 cm.

Zwischen den Messungen der einzelnen Proben wird die Küvette durch eine Pasteurpipette mit Aqua dest. gespült um möglichst keine Verunreinigung durch die vorhergehenden Proben zu haben. Von allen Proben werden Dreifachbestimmungen durchgeführt. Die Unterschiede zwischen den einzelnen Ergebnissen waren denkbar gering. Die 3 Werte wurden gemittelt und anhand der Standardkurve die zu der Transmission T gehörige Konzentration an 4-MU der Probe ermittelt.

2.7 Berechnung der Aktivitäten

2.7.1 Serum NAGA-Aktivität

Die Höhe der Serum NAGA-Aktivität wird bestimmt als Einheiten (U) pro ml Serum, wobei eine Einheit (=1U) der Freisetzung von 1 nmol 4-MU pro Stunde bei 37°C entspricht. Da die Konzentration an 4-MU auf der Standardkurve sich auf 1 ml bezieht, und die Aktivität der Serum NAGA pro ml und pro Stunde angegeben wird sind bei der Berechnung verschiedene Verdünnungsfaktoren zu beachten. Die Berechnung erfolgte nach folgender Formel:

$$\begin{array}{lcl} \text{Serum NAGA} & = & \frac{c \times M}{\text{ml Serum}} \\ \text{(in U/ml Serum)} & & \end{array}$$

c = Die zu T gehörige Konzentration auf der Standardkurve

M = Multiplikationsfaktor 180 bestehend aus:

- a) Endvolumen der Probe 3 ml, Standardkurve bezieht sich auf 1 ml, also Multiplikation mit 3
- b) Einsatz von 0.05 ml Serum, NAGA wird in U/ml angegeben, also Multiplikation mit 20
- c) Zeitfaktor: Aktivität der NAGA bezieht sich auf

Freisetzung von 4-MU pro Stunde, Inkubationszeit
bei uns 20 Minuten, also Multiplikation mit 3.

2.7.2 Urin NAGA-Aktivität

Die Höhe der Urin NAGA-Aktivität wird bestimmt als Einheiten (U) pro mg Kreatinin, wobei eine Einheit(=1U) der Freisetzung von 1 nmol 4-MU pro Stunde bei 37°C entspricht. Verschiedene Faktoren sind wiederum zu berücksichtigen, so daß sich folgende Formel ergibt:

$$\begin{array}{lcl} \text{Urin NAGA} & = & \frac{c \times M}{\text{Kreatininkonzentration}} \\ \text{(in U/mg} & & \\ \text{Kreatinin)} & & \end{array}$$

c = zu T gehörige Konzentration auf der Standardkurve

M = Multiplikationsfaktor 100, bestehend aus

- a) Endvolumen der Probe 5 ml, Standardkurve bezieht sich auf 1 ml, also Multiplikation mit 5
- b) Einsatz von 0.1 ml Urin, Kreatininkonzentration bezieht sich auf 1 ml, also Multiplikation mit 10
- c) Zeitfaktor: inkubiert wurde 30 Minuten, Freisetzung von 4-MU pro Stunde, also Multiplikation mit 2

Kreatininkonzentration: Hier wird die Kreatininkonzentration in mg/ml Urin eingesetzt

Die Kreatininkonzentration im Urin korreliert sehr gut mit der Konzentration des Urins, so daß wir uns ausschließlich auf die Angaben der NAGA-Aktivität in U/mg Kreatinin bezogen und die Bestimmung der Aktivität pro ml Urin, was eine Sammlung der Urinmenge über 24 Stunden zur Voraussetzung gehabt hätte, nicht durchgeführt wurde.

2.8 Weitere gemessene Parameter und Bestimmungsmethoden

Von Patienten mit Diabetes mellitus wurden noch folgende Parameter bestimmt.

- Blutzuckerkonzentration mit der Hexokinase-Methode (Kit der Firma Boehringer Mannheim)
- Serum und Urin Kreatininkonzentration colorimetrisch (Kit der Firma Boehringer Mannheim)
- HBA1 mit der Mikrosäulentchnik (Quick-Step, Panchem GmbH)
- Klassifizierung der diabetischen Retinopathie durch Fundoskopie nach Ballentyne (3)
- Cholesterin und Triglyzeride
- für statistische Berechnungen wurde ein programmierbarer Taschenrechner, Modell Casio fx 6500 verwendet.

3. Ergebnisse

3.1 NAGA-Aktivität in verschiedenen untersuchten Patientengruppen

3.1.1. Serum

Tabelle 2a zeigt die Ergebnisse der NAGA-Aktivitätsmessung bei Gesunden, Diabetikern und Patienten mit Niereninsuffizienz. Die Aktivität im Serum liegt bei Diabetikern signifikant höher als in der Kontrollgruppe ($p < 0.01$). Keine signifikanten Unterschiede konnten zwischen Gesunden und Patienten mit Niereninsuffizienz, sowie zwischen Diabetikern und Nierenkranken festgestellt werden. Die gering erhöhten Werte bei Frauen gegenüber Männern, sowohl in der Gruppe der Diabetiker, wie auch in der Kontrollgruppe, erwiesen sich als statistisch nicht relevant, weshalb Männer und Frauen in folgenden Betrachtungen als einheitliches Kollektiv angesehen werden.

3.1.2. Urin

Tabelle 2b zeigt die Ergebnisse der Urin NAGA-Aktivitätsmessungen bei den gleichen Gruppen, also wiederum bei Diabetikern, einer gesunden Kontrollgruppe und nierenkranken Personen. Es zeigen sich erneut erhöhte Werte der Diabetikergruppe gegenüber der Kontrollgruppe. ($p < 0.01$). Auffällig sind hier die sehr hohen NAGA-Werte der Patienten mit Niereninsuffizienz, welche hohe statistische Signifikanz gegenüber der Kontrollgruppe und den Diabetikern zeigen ($p < 0.01$). Die unterschiedlichen

Werte bei den Geschlechtern in der Diabetiker-, sowie in der Kontrollgruppe zeigten keine statistische Signifikanz, so daß wiederum von einem einheitlichen Kollektiv ausgegangen wurde.

3.2. Korrelation der NAGA-Aktivität im Serum und Urin

Betrachtet man in Tabelle 3 die Werte aller untersuchten Patienten ist keine Korrelation feststellbar ($r=0.12$). Auch bei Aufteilung in Diabetiker, Kontrollgruppe und Nierenkranke zeigt sich keine Korrelation zwischen Urin und Serum NAGA-Aktivität ($r= 0.28$; $r= -0.005$; $r= 0.018$) Zu bemerken ist jedoch, daß sich bei den Diabetikern mit $r= 0.28$ ein deutlich höherer Korrelationskoeffizient als in den anderen Gruppen findet, der auch das statistische Signifikanzniveau von $p= 0.05$ nur knapp verfehlt hat.

3.3 Korrelation der Serum und Urin NAGA-Aktivität zu anderen Parametern

3.3.1. Serum NAGA-Aktivität und andere Parameter

Tabelle 4 zeigt die Korrelation zwischen Serum NAGA-Aktivität und anderen, im Patientenkollektiv gemessenen, Parametern. Eine signifikante Korrelation konnte zwischen der Höhe der NAGA-Aktivität und

- einer diabetischen Retinopathie
- der Höhe des aktuellen Blutzuckers
- der Höhe des HBA1-Anteils
- der Höhe des Cholesterinwertes
- und der Höhe des Triglyzeridwertes

gefunden werden. Kein Korrelation fand sich zwischen NAGA-Aktivität und Diabetesdauer, Lebensalter sowie Höhe des Serumkreatinins.

3.3.2. Urin NAGA-Aktivität und andere Parameter

Wie aus Tabelle 5 ersichtlich, ergab sich bei der Urin NAGA-Messung eine Korrelation zu

- dem Auftreten einer Retinopathie
- der Höhe des Blutzuckers
- dem Anteil des HBA1
- der Höhe des Serumkreatinins
- der Höhe des Triglyzeridwertes.

Keine Korrelation konnte zur Diabetesdauer, zum Lebensalter sowie zur Höhe des Serumcholesterins festgestellt werden.

3.4 Betrachtung verschiedener zu der Höhe der Serum oder Urin NAGA-Aktivität korrelierender Parameter.

3.4.1.Retinopathie

Wie in Tabelle 4 und 5 dargelegt zeigt sich eine lineare Korrelation zwischen Retinopathie und Serum bzw. Urin NAGA-Aktivität. Schlüsselt man die Retinopathie nach dem Schweregrad auf, so ergeben sich folgende Zusammenhänge (Abbildungen 2a und b).

Sowohl im Serum, wie im Urin zeigt die Aktivität bei Diabetikern ohne Retinopathie keine signifikanten Unterschiede zur Kontrollgruppe. Patienten mit Retinopathie Grad I haben sowohl im Urin, wie auch im Serum deutlich erhöhte NAGA-Werte ($p < 0.05$). Bei Patienten mit

Retinopathie Grad II, III, bzw. IV sind die Unterschiede zu Gesunden und Diabetikern ohne Retinopathie im Serum und Urin hoch signifikant ($p < 0.01$).

3.4.2 Blutzuckerkonzentratin

Diabetiker mit mäßig erhöhten Blutzuckerkonzentrationen (160-250 mg%) zeigen keine statistische Differenz der Urin und Serum NAGA-Aktivitäten gegenüber Patienten ohne nennenswerte Erhöhung des aktuellen Blutzuckers (< 160 mg%). Auffällig sind jedoch die Aktivitätserhöhungen im Serum und Urin bei Patienten mit stark erhöhtem Blutzucker (Abbildung 3a und b)

3.4.3. HBA1

HBA1 hat sich in der Vergangenheit als guter Kontrollparameter für die Stoffwechselsituation in den letzten Wochen von diabetischen Patienten erwiesen. Allgemein gilt, daß Patienten mit Werten des HBA1 von kleiner 8% während der letzten Wochen keine längerdauernden, bzw. stark überhöhten Blutzuckerkonzentrationen hatten, während man bei Patienten mit HBA1 Werten von größer 11% keine befriedigende Diabetes Einstellung vermuten kann. Trägt man die Höhe der NAGA-Aktivität zur jeweiligen HBA1-Einteilung auf (Abbildung 4a und b) ist deutlich zu sehen, daß Patienten mit schlechter Stoffwechselsituation (HBA1 $> 11\%$) signifikant höhere Aktivitäten, sowohl im Serum, wie auch im Urin zeigen ($p < 0.05$). Keine wesentlichen Unterschiede zeigen sich zwischen guter (HBA1 $< 8\%$) und mäßiger Stoffwechsellage (HBA1 8-11%).

3.4.4. Serumcholesterin

Teilt man die Höhe des Cholesterinwertes ein in, nicht erhöht ($< 220 \text{ mg\%}$), grenzwertig erhöht ($220\text{--}260 \text{ mg\%}$) und erhöht ($> 260 \text{ mg\%}$), zeigt sich ein signifikanter Unterschied der Serum NAGA-Aktivität zwischen Diabetikern mit nicht erhöhten, zu Diabetikern mit erhöhten Cholesterinwerten (Abbildung 4a). Keine signifikanten Aktivitätsunterschiede konnten im Urin bei dieser Einteilung beobachtet werden (Abbildung 4b)

3.4.5. Serumtriglyzeride

Serum und Urin NAGA-Aktivitäten zeigen bei Patienten mit deutlich erhöhten Triglyzeridwerten ($> 220 \text{ mg\%}$) signifikant höhere Werte als bei Patienten mit normalen Werten (Abbildung 6a und b). Eine geringe Erhöhung der Aktivität ist auch bei Patienten mit Triglyzeridwerten zwischen 140 und 220 $\text{mg\%}$ zu beobachten, die sich allerdings statistisch als nicht signifikant erwies.

3.4.6. Serumkreatinin

Bei Betrachtung der Abbildung 7 fällt auf, daß bei steigender Kreatininkonzentration auch die durchschnittliche Aktivität der Urin NAGA ansteigt. Zu beachten ist jedoch, daß bis auf 4 Werte (Kreatinin $> 1.2 \text{ mg\%}$) sämtliche , Kratininspiegel im Normalbereich lagen, die Kreatininwerte auch von anderen Parametern (Muskelmasse) abhängen, und somit der Serum Kreatinin-Wert als kein guter Kontrollparameter für eine eventuell vorhandene diabeti-

sche Nephropathie gelten kann. Besser geeignet wäre eine signifikante Proteinurie, die eine diabetische Nephropathie bereits bei noch normalen Kreatinin-Werten anzeigen könnte. In unserem Patientengut wiesen aber lediglich 6 Patienten eine Proteinurie auf, so daß statistische Aussagen über den Zusammenhang von Proteinurie und NAGA-Aktivität nicht gemacht werden konnten. Ihre Durchschnittsaktivität lag mit 281 U/mg Kreatinin deutlich höher als bei Diabetikern ohne Proteinurie.

3.5. Schweregrad der diabetischen Retinopathie im Vergleich zu einigen anderen Parametern

Tabellen 6-9 zeigen Zusammenhänge zwischen Retinopathie und anderen geprüften Parametern. Keine Korrelation konnte zwischen dem Schweregrad der Retinopathie und der Diabetesdauer dargestellt werden. Betrachtet man Patienten mit Retinopathie Stadium III und IV, so zeigen diese Patienten signifikant erhöhte Blutzucker- und HBA1-Werte gegenüber Patienten bei denen in der Fundoskopie keine Retinopathie nachgewiesen werden konnte.

4. Diskussion

Unsere Ergebnisse zeigen Übereinstimmung mit den Untersuchungen der meisten anderen Autoren, die den Zusammenhang zwischen Urin oder Serum NAGA-Aktivität und Diabetes mellitus untersucht haben (4,44,12,36). Auch in unserer Studie zeigte sich eine signifikante Erhöhung sowohl der Urin, wie auch der Serum NAGA-Aktivität bei diabetischen Patienten gegenüber einer Kontrollgruppe. Die Unterschiede konnten nicht durch Alter, Geschlecht oder andere Parameter erklärt werden.

Untersuchungen über den Zusammenhang von Urin und Serum NAGA-Aktivität liegen in der Literatur noch nicht vor. Beachtet man, daß Serum und Urin Proben in unserem Untersuchungen zur selben Zeit abgenommen wurden, muß zumindest bei dem gesunden Kontrollkollektiv aufgrund der fehlenden Korrelation von Serum und Urin NAGA-Aktivität ($r = -0.005$) von Folgendem ausgegangen werden:

Die NAGA-Aktivität im Serum kommt durch Freisetzung lysosomaler Enzyme verschiedener Gewebe in die Blutbahn zustande, während die Urin NAGA-Aktivität sich nicht durch glomeruläre Filtration des im Blutstrom vorhandenen Enzyms, sondern vielmehr durch Enzymsekretion seitens glomerulärer oder tubulärer Zellen in den Urin erklären läßt.

Bei diabetischen Patienten kann zwar ebenfalls keine signifikante Korrelation zwischen Serum und Urin NAGA-Aktivität nachgewiesen werden, aber mit $r = 0.28$ ist doch eine deutlich positive Korrelation festzustellen, die das Signifikanzniveau von $p = 0.05$ nur knapp verfehlt hat. Aufgrund dessen kann bei Diabetikern nicht ausgeschlossen werden, daß eine Erhöhung der Serum NAGA-Aktivität, zumindest teilweise auch durch Enzymsekretion von Nierenzellen in die Blutbahn zustande kommt, wie dies auch

Fushimi und Mitarbeiter vermuten (21). Eine mögliche Erklärung hierfür wäre, daß sich die diabetische Stoffwechsellage an der Niere vor allem durch verminderte zelluläre Integrität tubulärer Zellen, bzw. deren Lysosomen manifestiert. Diese verminderte Integrität der Zellen könnte sich anhand der Sekretion lysosomaler Enzyme, insbesondere auch der NAGA bemerkbar machen. Diese Theorie entspricht auch tierexperimentellen Studien, bei denen die NAGA-Aktivität im Nierengewebe von Ratten mit künstlich erzeugtem Diabetes mellitus deutlich abnahm, während die Serum Aktivität anstieg (30,21) Auch die Tatsache, daß Urin NAGA-Aktivitäten bei Patienten mit verschiedenen Nierenerkrankungen oder kurz vor der Abstoßung eines Nierentransplantats sehr hoch sind, könnten mit einer Störung zellulärer Strukturen, ausgelöst durch verschiedene Ursachen, erklärt werden. (32,35,13,14, 34,40,47).

Für das Zustandekommen der erhöhten NAGA-Aktivität im Serum und Urin könnten auch andere Mechanismen verantwortlich sein. Einerseits wird diskutiert, ob nicht eine Einlagerung von Glycoproteinen und Mucopolysacchariden oder von löslichen Immunkomplexen im Gewebe eine lysosomale Enzyminduktion bewirken könnte (2,4), sei es in der Leber, Niere oder anderen Organen. Andererseits wird aber auch, wie schon in Erwägung gezogen, über eine verminderte Membranstabilität von Lysosomen, hervorgerufen durch eine diabetische Stoffwechsellage, berichtet (44,55). Interessant erscheint in diesem Zusammenhang, daß bei den Experimenten bei Ratten mit künstlich induziertem Diabetes mellitus (30,21) nicht nur die Aktivität im Nierengewebe erniedrigt war, sondern sich auch in der Retina geringere Aktivitäten zeigten, während in anderen, nicht selektiv von der diabetischen Mikroangiopathie betroffenen Organen

(Leber, Milz) sich keine erniedrigte Aktivität fand. Die Höhe der NAGA-Aktivität im Serum und Urin, hervorgerufen durch Sekretion der Lysosomen in Niere und Retina, könnte somit ein Indikator für den Schweregrad der diabetischen Mikroangiopathie, die sich vor allem an der Retina und der Niere abspielt, sein.

Mehrere Autoren berichten über eine Korrelation zwischen Retinopathie und der Höhe der NAGA-Aktivität im Serum und Urin (61,60,44,22). In unserer Untersuchung fand sich bei Patienten mit Diabetes mellitus ohne Retinopathie im Serum nur bei einem, im Urin bei keinem Patienten erhöhte NAGA-Aktivität, wenn man das neunzigste Perzentil des Kontrollkollektivs als obere Normgrenze definierte. Bei Patienten mit Retinopathie Stadium I-IV fanden sich jedoch im Serum bei 52%, im Urin bei 58% erhöhte Werte (Tabelle 9). Betrachtet man nur Patienten mit Retinopathie Stadium III+IV, so zeigt sich im Serum bei 62%, im Urin bei 87% erhöhte NAGA-Aktivität. Da sich die hohe NAGA-Aktivität im Urin bei Patienten mit Retinopathie nicht allein durch glomeruläre Filtration erklären läßt (fehlende, statistisch signifikante Korrelation der Serum und Urin NAGA-Aktivität), könnte diese Erhöhung bedeuten, daß eigentlich nicht Veränderungen der Mikrogefäße der Retina mit der Urin NAGA-Aktivität korrelieren, sondern ähnliche Vorgänge an der Niere ablaufen und so zur diabetischen Nephropathie führen. Folgedessen könnte die Urin NAGA-Aktivität ein guter Parameter für den Schweregrad einer diabetischen Nephropathie darstellen. Obwohl eine Korrelation zwischen Serum Kreatinin-Werten und Urin NAGA-Aktivität nachzuweisen war, erscheint uns doch die Kreatininkonzentration ein zu wenig empfindlicher Parameter, eine Nierenschädigung im Sinne einer diabetischen Nephropathie frühzeitig zu erfassen. Es wäre daher von Interesse in diesem Zusammenhang die NAGA-Aktivität mit der Kreatinin-Clearance zu vergleichen.

Wie in mehreren anderen Studien fand sich auch bei uns eine Korrelation zwischen der NAGA-Aktivität im Serum und Urin und der Blutzuckerkonzentration, bzw. der Stoffwechsellaage (ausgedrückt als prozentualer Anteil des glycosilierten Hämoglobin A1). Whiting (60) und Belfiore(4) vermuten, daß es während einer Hyperglykämie zu einer Schädigung der Lysosomenmembran und damit verminderter Stabilität und erhöhter Abgabe lysosomaler Enzyme ins Serum und in den Urin kommt. Dies wäre insbesondere der Fall wenn die hohen Blutzuckerkonzentrationen über einen längeren Zeitraum bestünden.

Als Langzeitparameter für die Beurteilung der Stoffwechsellaage bei Diabetikern hat sich inzwischen die Messung der HBA1-Konzentration etabliert. Beide Parameter, sowohl Blutzuckerkonzentration wie auch HBA1, erwiesen sich bei unserer Arbeit als signifikant korrelierend zu der Serum und Urin NAGA-Aktivität. Diese Beobachtungen wurden auch bereits von Pitkänen (44) und anderen gemacht (46,36).

Wie aus früheren Studien hervorgeht fanden sich bei Patienten mit nachgewiesener Atherosklerose ebenfalls erhöhte Serum NAGA-Aktivitäten (7). Andererseits wurde auch über eine Korrelation zwischen Cholesterin-und Triglyceriderhöhung und Atherosklerose bei diabetischen Patienten berichtet. Es kann also letztendlich nicht ausgeschlossen werden, daß Atherosklerose, also Makroangiopathie, ebenfalls Einfluß auf die Höhe der NAGA-Aktivität im Serum hat. Untersuchungen über die Höhe der NAGA-Aktivitäten im Urin bei Atherosklerose liegen in der Literatur noch nicht vor. Es wäre aber durchaus denkbar, daß Makroangiopathie der Nierengefäße ebenfalls eine Erhöhung der NAGA-Werte im Urin verursachen könnte. Bemerkenswert erscheint in diesem Zusammenhang, daß der Verminderung lysosomaler Aktivität auch eine entschei-

dende Rolle in der Pathogenese der Atherosklerose zugeschrieben wird (16,59,60,27). Es könnte also möglich sein, daß sowohl erhöhte Blutzuckerwerte, als auch erhöhte Serum-Lipidwerte eine Verminderung lysosomaler Aktivität bewirken und so in ihrer Addition den Entstehungsprozeß der diabetischen Mikroangiopathie beschleunigen.

Diese Untersuchungen bestätigen, ohne den pathophysiologischen Zusammenhang erklären zu können, eine Beziehung zwischen dem Auftreten der diabetischen Mikroangiopathie und der Höhe der NAGA-Aktivitäten im Serum und Urin. Dies könnte die Theorie unterstützen, daß lysosomale Enzyme am Entstehungsprozeß der diabetischen Mikroangiopathie teilhaben. Zukünftig könnte die Messung der Urin und Serum NAGA-Aktivität als weiterer klinischer Test für das Vorliegen einer diabetischen Mikroangiopathie zur Anwendung kommen, und so vor allem für die Prognose und Therapie des Diabetes mellitus Bedeutung erlangen. Vergessen werden darf jedoch nicht, daß gerade die Serum NAGA-Aktivität bei verschiedenen anderen Erkrankungen (chronische Hepatopathien; Myocardinfarkt, maligne Tumoren u.a.) ebenfalls erhöhte Aktivität zeigt. Auch die Urin NAGA-Aktivität wird durch andere Erkrankungen beeinflusst. Bis jetzt befaßten sich wissenschaftliche Arbeiten jedoch ausschließlich mit Aktivitätserhöhungen der Urin NAGA bei verschiedenen Nierenrkrankungen. Sollte sich in zukünftigen Untersuchungen die Urin NAGA-Aktivität nicht noch von anderen, nicht die Niere betreffenden, Erkrankungen abhängig zeigen, erscheint sie spezifischer das Auftreten einer diabetischen Mikroangiopathie anzeigen zu können, als eine Messung der Serum NAGA-Aktivität.

5. Zusammenfassung

Die diabetische Mikroangiopathie ist gekennzeichnet durch eine Verdickung der Basalmembran der Kapillaren. Sie wird verursacht durch eine Einlagerung von Glycoproteinen und Mucopolysacchariden. Für den Abbau dieser Substanzen sind lysosomale Enzyme, vor allem die NAGA, verantwortlich. Eine verminderte NAGA-Aktivität in den Lysosomen könnte damit für die Entstehung der diabetischen Mikroangiopathie verantwortlich sein. An 44 Diabetikern und einer Kontrollgruppe von 32 gesunden Personen wurde mit Hilfe der Fluoreszenzphotometrie die NAGA-Aktivität im Serum und Urin bestimmt. Sie war deutlich erhöht bei Diabetikern gegenüber dem Kontrollkollektiv. Eine signifikante Korrelation der NAGA-Aktivität zur diabetischen Retinopathie, zu Blutzuckerkonzentrationen, zum Anteil des HBA1 sowie zur Höhe des Triglyzeridspiegels konnte ebenfalls festgestellt werden, dagegen kein Zusammenhang zwischen der Serum und Urin NAGA-Aktivität.

Die Resultate bestätigen, daß eine Beziehung zwischen der NAGA-Aktivität und der Retinopathie sowie anderen Parametern besteht. Dies könnte die Hypothese untermauern, daß lysosomale Enzyme bei der Entstehung der diabetischen Mikroangiopathie von Bedeutung sein könnten.

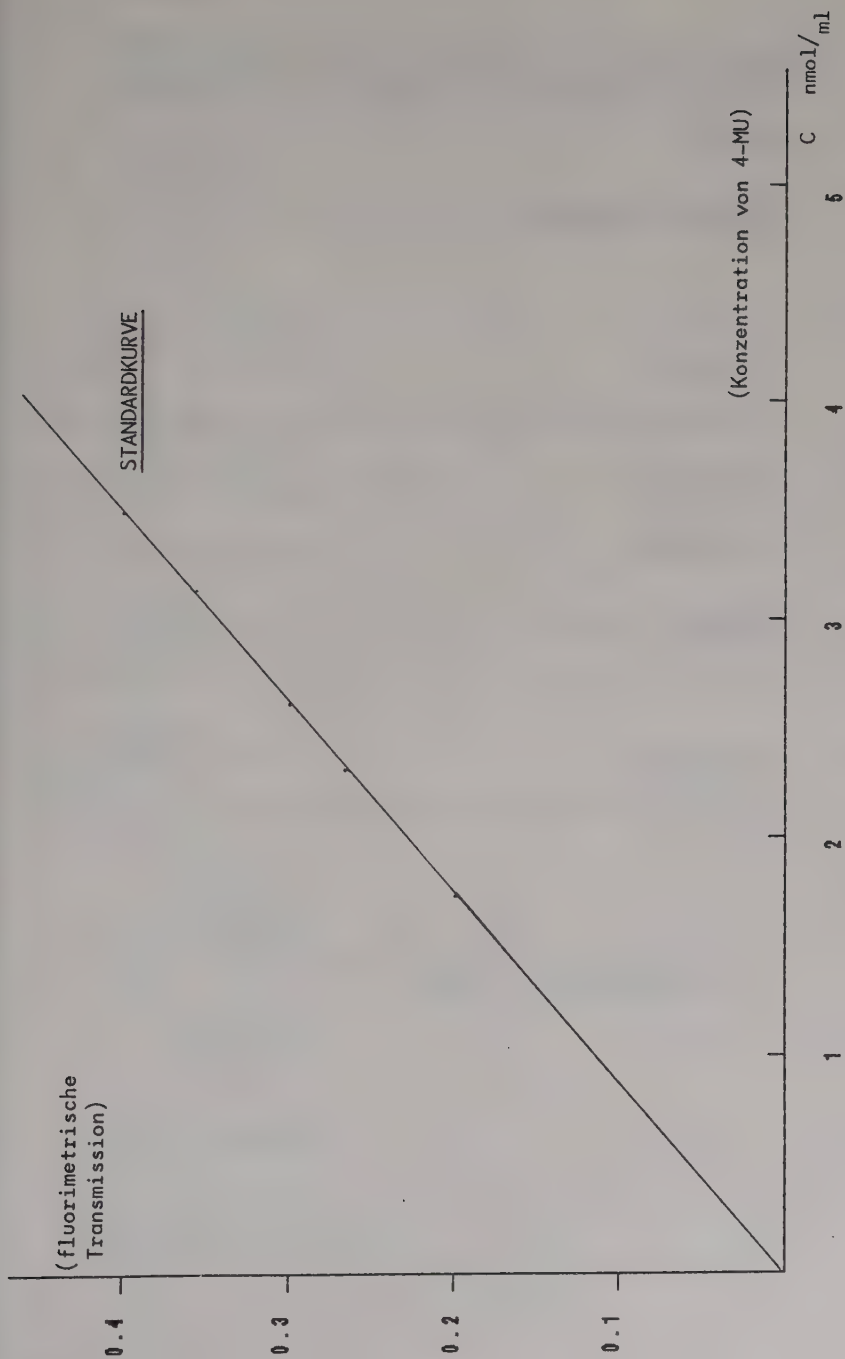


Tabelle 1

Patientenverteilung

Patienten	n	Alter*
Diabetiker	44	63 $\pm$ 9
a) männlich	23	63 $\pm$ 10
b) weiblich	21	63 $\pm$ 8
Gesunde	32	57 $\pm$ 13
a) männlich	17	54 $\pm$ 14
b) weiblich	15	60 $\pm$ 12
Nierenkranke	10	69 $\pm$ 13
a) männlich	6	74 $\pm$ 10
b) weiblich	4	60 $\pm$ 11

* keine statistisch signifikante Differenz zwischen den verschiedenen Gruppen

Tabelle 2

NAGA-Aktivität im Urin und Serum bei Normalpersonen, Diabetikern und Patienten mit Niereninsuffizienz

a) Serum

Patienten	n	x	SEM
I. Gesunde	32	412,1	13,8
a) männlich	17	405,0	16,0
b) weiblich	15	420,1	22,9
II. Diabetiker	44	482,3	14,8
a) männlich	23	471,3	19,5
b) weiblich	21	494,3	22,2
III. Nierenkranke	10	455,0	26,9

p zwischen I und II < 0.01; p zwischen II und III, sowie I und III nicht signifikant.

b) Urin

Patienten	n	x	SEM
I. Gesunde	32	99,3	9,1
a) männlich	17	102,1	14,7
b) weiblich	15	96,1	9,9
II. Diabetiker	44	161,6	18,5
a) männlich	23	139,7	23,3
b) weiblich	21	185,7	28,1
III. Nierenkranke	10	701,0	188,3

p zwischen I und II < 0.01; p zwischen II und III, sowie I und III < 0.001

Tabelle 3

Korrelation zwischen NAGA-Aktivität im Serum und Urin

	n	r	p
a) Gesamtkollektiv	86	0.12	n.s.
b) Diabetiker	44	0.28	n.s.
c) Gesunde	32	- 0.005	n.s.
d) Nierenkranke	10	0.018	n.s.

Tabelle 4

Korrelation zwischen Serum NAGA-Aktivität und anderen
geprüften Parametern bei Diabetikern

	n	r	p
NAGA - Retinopathie	44	0.378	< 0.01
NAGA - Blutzucker	44	0.319	< 0.05
NAGA - HBA1	42	0.307	< 0.05
NAGA - Serum Kreatinin	43	- 0.079	n.s.
NAGA - Diabetesdauer	42	- 0.160	n.s.
NAGA - Lebensalter	44	0.065	n.s.
NAGA - Cholesterin	37	0.421	< 0.01
NAGA - Triglyzeride	35	0.529	< 0.01

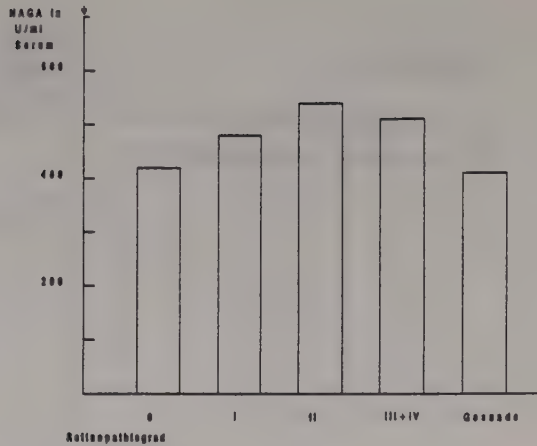
Tabelle 5

Korrelation zwischen Urin NAGA-Aktivität und anderen
geprüften Parametern bei Diabetikern

	n	r	p
NAGA - Retinopathie	44	0.62	< 0.01
NAGA - Blutzucker	44	0.370	< 0.05
NAGA - HBA1	42	0.407	< 0.01
NAGA - Serum Kreatinin	43	0.418	< 0.01
NAGA - Diabetesdauer	42	- 0.150	n.s.
NAGA - Lebensalter	44	- 0.156	n.s.
NAGA - Cholesterin	37	0.144	n.s.
NAGA - Triglyzeride	35	0.529	< 0.01

Abbildung 2a

Serum NAGA- Abhängigkeit vom Schweregrad der Retinopathie



Retinopathiegrad	n	x	SEM	p
0	13	420.1	19.2	n.s
I	12	476.6	25.3	< 0.05
II	11	538.8	31.8	< 0.01
III+IV	8	513.7	28.8	< 0.01
Gesunde	32	412.1	13.7	-

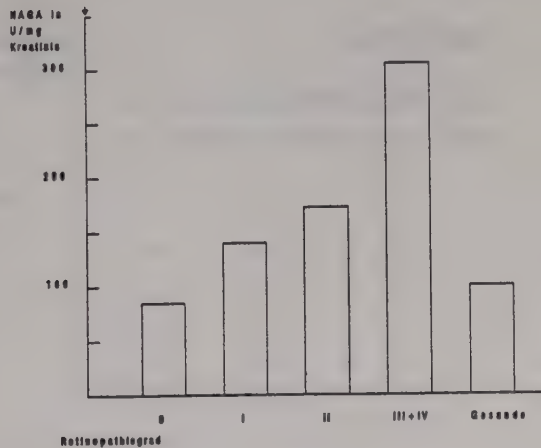


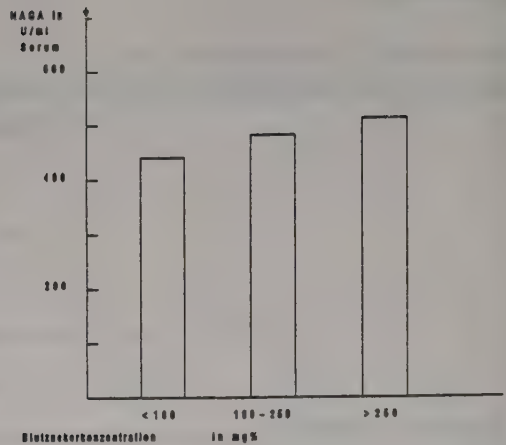
Abbildung 2b

Urin NAGA-Abhängigkeit vom Schweregrad der Retinopathie

Retinopathiegrad	n	x	SEM	p
0	13	84.2	10.4	n.s
I	12	138.3	20.1	< 0.05
II	11	173.1	19.9	< 0.01
III+IV	8	306.6	66.7	< 0.01
Gesunde	32	99.3	9.1	-

Abbildung 3a

Serum NAGA- Abhängigkeit von
der Blutzuckerkonzentration

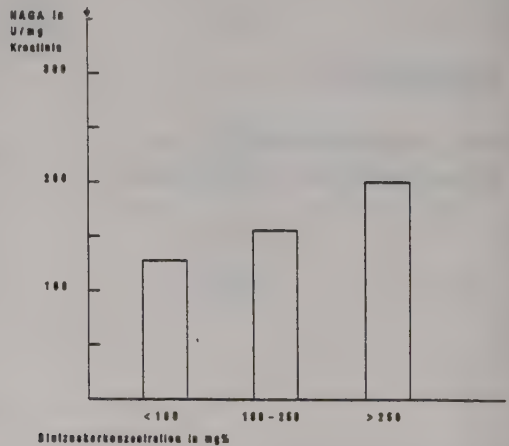


Blutzuckerkonzentration
in mg%

	n	x	SEM	p
< 160	8	445.5	35.2	-
160-250	25	480.5	16.6	n.s.
> 250	11	512.8	35.3	n.s.

Abbildung 3b

Urin NAGA- Abhängigkeit von
der Blutzuckerkonzentration

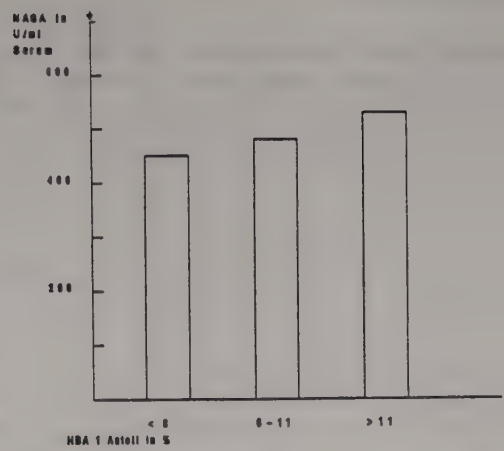


Blutzuckerkonzentration
in mg%

	n	x	SEM	p
< 160	8	127.6	17.7	-
160-250	25	155.3	25.8	n.s.
> 250	11	200.9	40.8	< 0.2

Abbildung 4a

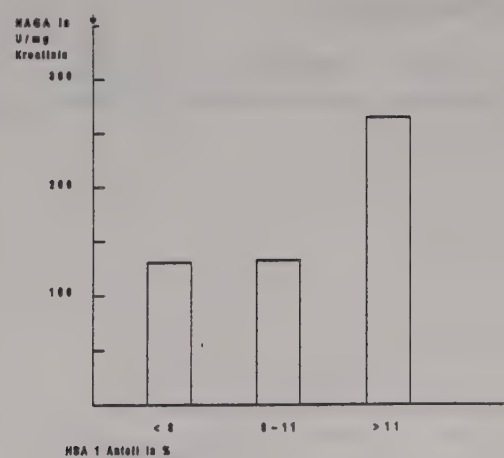
Serum NAGA- Abhängigkeit von
der HBA1-Konzentration



HBA1-Anteil in %	n			
< 8	11	449.5	27.1	-
8-11	21	480.0	23.3	n.s
> 11	11	525.3	24.6	< 0

Abbildung 4b

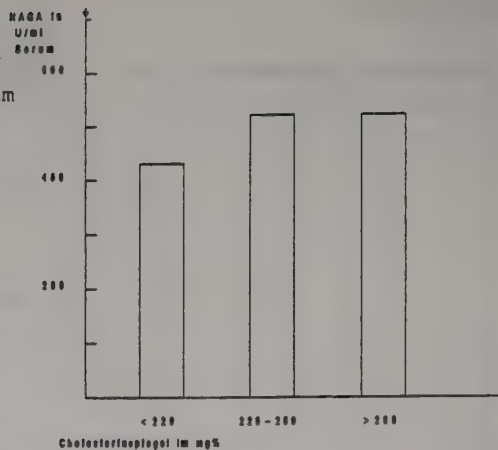
Urin NAGA- Abhängigkeit von
der HBA1-Konzentration



HBA1-Anteil in %	n	x	SEM	p
< 8	11	130.8	24.7	-
8-11	21	131.9	12.7	n.s
> 11	11	263	54.0	< 0

Abbildung 5a

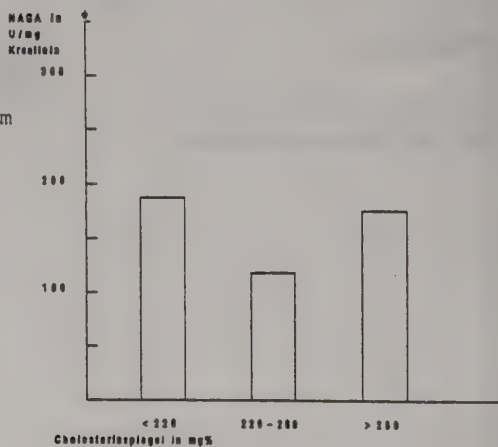
Serum NAGA- Abhängigkeit von der
Cholesterinkonzentration im Serum



Cholesterinspiegel in mg%	n	x	SEM	p
< 220	14	431.1	22.6	-
220-260	10	518.3	41.1	0
> 260	13	517.9	18.6	< 0

Abbildung 5b

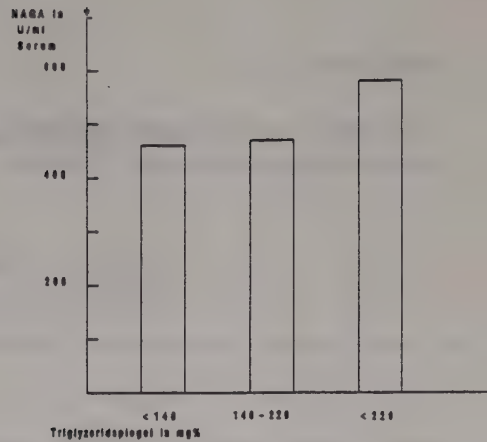
Urin NAGA- Abhängigkeit von der
Cholesterinkonzentration im Serum



Cholesterinspiegel in mg%	n	x	SEM	p
< 220	14	185.8	39.2	-
220-260	10	117.9	18.5	n.s.
> 260	13	177.8	33.7	n.s.

Abbildung 6a

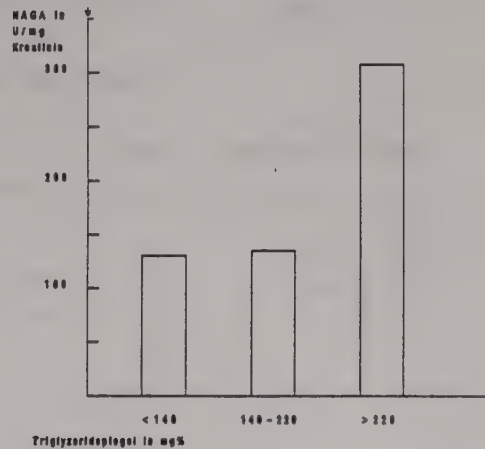
Serum NAGA- Abhängigkeit von der Triglyzeridkonzentration im Serum



Triglyzeridspiegel in mg%	n	x	SEM	p
< 140	21	456.8	18.4	-
140-220	7	463	32.5	n.s.
> 220	7	577.6	46.3	< 0.01

Abbildung 6b

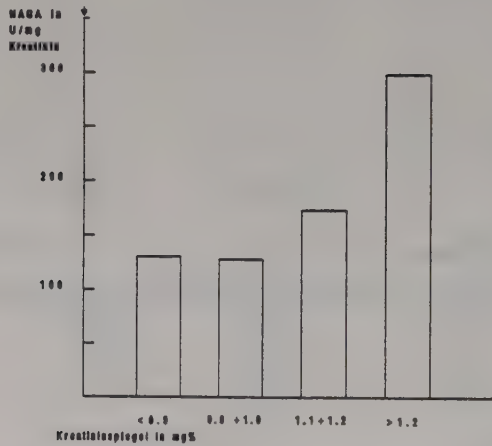
Urin NAGA- ABhängigkeit von der Triglyzeridkonzentration im Serum



Triglyzeridspiegel in mg%	n	x	SEM	p
< 140	21	128.7	12.0	-
140-220	7	135.3	28.1	n.s.
> 220	7	308.7	74.8	< 0.01

Abbildung 7

Urin NAGA- Abhängigkeit von der
Kreatininkonzentration im Serum



Kreatininspiegel in mg%	n	x	SEM
< 0.9	12	131.5	14.7
0.9 + 1.0	11	127.5	15.1
1.1 + 1.2	15	172.5	32.7
> 1.2	4	298.3	122.9

Tabelle 6

Beziehung der Retinopathie zu den HBA1-Werten

Retinopathiegrad		HBA1 (in %)			
	n	x	SD	SEM	p
0	12	8.65	1.38	0.39	-
I	12	8.97	1.80	0.52	n.s.
II	11	9.43	2.09	0.63	n.s.
III+IV	7	11.82	0.77	0.29	< 0.01

p bezieht sich auf Patienten ohne Retinopathie

Tabelle 7

Beziehung der Retinopathie zu den Blutzuckerwerten

Retinopathiegrad		Blutzucker (in mg%)			
	n	x	SD	SEM	p
0	13	184.9	44.9	12.4	-
I	12	208.9	51.6	14.8	n.s
II	11	221.0	59.3	17.9	n.s
III+IV	8	240	24.9	8.8	< 0

p bezieht sich auf Patienten ohne Retinopathie

Tabelle 8

Beziehung der Retinopathie zur Diabetesdauer

Retinopathiegrad		Diabetesdauer (in Jahren)			
	n	x	SD	SEM	p
0	11	16.9	10.1	3.1	-
I	12	18	8	2.3	n.s.
II	11	19.4	7.1	2.15	n.s.
III+IV	7	17.8	8	3.01	n.s.

p bezieht sich auf Patienten ohne Retinopathie

Tabelle 9

Anzahl der Diabetiker in der jeweiligen Retinopathiegruppe
mit erhöhten NAGA-Werten

Retinopathiegrad	Serum n	Urin n	n gesamt
0	1 (7.7%)	-	13
I	4 (33.3%)	3 (25.0%)	12
II	7 (63.7%)	8 (72.8%)	11
III+IV	5 (62.5%)	7 (87.5%)	8

n gesamt: Anzahl aller Diabetiker mit jeweiligem Retinopathiegrad

Gesamtaufstellung der gemessenen Werte bei allen Patienten

Patienten	Alter	Geschlecht	Serum- kreatinin	BZ	HbA1 %	Diabetesdauer (Jahre)	Retionopathie	Kreatinin mg/ml	Δ T Serum	Δ T Urin	NAGA Serum	NAGA Urin	Cholesterin	Triglyceride
1	69	m	1,0	198	10,4	21	II	0,68	0,318	0,058	500	74	232	343
2	57	w	0,8	135	9,2	13	I	1,17	0,370	0,267	582	202	301	97
3	80	w	1,2	256	9,0	21	II	0,75	0,317	0,217	499	253	262	84
4	60	w	0,9	242	10,2	35	I	0,60	0,353	0,098	555	143	271	--
5	60	w	0,8	272	9,7	35	0	0,64	0,330	0,093	519	127	270	--
6	67	m	0,8	188	5,0	16	II	0,56	0,357	0,049	562	77	236	114
7	75	m	1,0	172	7,9	21	I	0,95	0,421	0,032	662	130	172	127
8	67	m	1,0	256	8,4	9	II	0,61	0,377	0,068	593	98	247	47
9	51	m	1,2	277	13,7	2	III	1,26	0,420	0,763	660	530	376	1736
10	62	w	0,7	240	11,4	20	IV	0,74	0,328	0,164	516	194	284	94
11	67	w	0,8	170	10,3	20	II	0,51	0,332	0,114	523	196	273	136
12	55	w	1,0	253	9,8	16	I	1,00	0,294	0,133	463	117	294	156
13	59	m	1,2	163	10,8	3	0	1,43	0,272	0,125	429	77	259	139
14	49	w	0,8	156	9,9	22	0	1,95	0,216	0,220	341	100	216	87
15	47	m	1,2	249	12,7	21	IV	1,26	0,265	0,224	418	280	219	147
16	56	w	1,5	250	12,7	14	IV	0,63	0,336	0,486	530	676	180	470
17	70	w	0,7	156	6,8	12	0	0,77	0,313	0,087	493	99	217	132

18	73	w	1,2	238	7,5	29	II	0,56	0,234	0,142	369	22	203	280
19	73	w	1,0	209	11,6	29	IV	0,40	0,362	0,030	570	67	-	-
20	66	m	1,0	188	12,6	15	I	0,56	0,360	0,048	566	77	260	140
21	63	m	1,1	172	10,0	12	0	1,21	0,283	0,138	446	100	176	77
22	55	w	1,2	202	11,2	--	III	0,53	0,356	0,197	560	326	-	-
23	66	m	1,0	208	11,2	22	II	0,35	0,284	0,080	447	203	205	122
24	46	m	1,1	203	8,2	3	0	0,36	0,231	0,040	364	99	196	87
25	54	m	1,2	146	7,7	6	I	1,41	0,255	0,149	402	93	236	145
26	65	w	1,2	364	10,6	5	II	0,63	0,503	0,120	792	267	260	1340
27	73	m	1,2	202	10,1	29	0	0,59	0,203	0,042	414	63	-	-
28	71	m	1,1	256	11,6	20	II	0,42	0,282	0,060	445	125	-	-
29	72	w	1,2	209	8,2	19	I	0,51	0,248	0,070	391	114	216	92
30	73	m	1,4	292	5,9	3	II	0,37	0,267	0,460	420	347	-	-
31	76	m	1,1	241	10,9	29	II	1,00	0,380	0,200	599	176	251	244
32	67	m	-	157	7,2	--	0	1,06	0,262	0,086	413	71	-	-
33	68	w	1,0	121	12,9	25	II	1,19	0,367	0,293	593	216	329	374
34	61	w	1,1	175	7,6	20	0	0,84	0,207	0,126	326	132	160	204
35	71	m	0,8	170	8,8	24	0	1,11	0,311	0,060	490	46	273	183
36	50	m	1,2	204	-	6	0	1,82	0,313	0,023	493	11	266	73
37	63	w	0,8	264	7,0	23	I	1,17	0,259	0,152	408	114	179	73
38	59	w	0,7	185	7,6	17	II	1,37	0,286	0,191	450	122	215	119
39	48	m	1,3	99	8,2	20	I	0,43	0,186	0,099	294	138	234	84
40	76	m	1,0	215	8,7	21	I	0,40	0,242	0,043	380	96	279	101
41	60	w	1,3	269	6,5	11	0	1,02	0,283	0,037	446	32	-	-
42	53	m	0,8	268	12,65	24	III	0,93	0,251	0,211	356	199	219	100
43	54	w	1,0	225	10,6	15	III	0,19	0,292	0,040	460	181	299	166
44	58	m	0,8	135	18,9	24	I	1,24	0,283	0,144	446	102	239	81

Patienten	Alter	Geschlecht	Serum-Kreatinin	Harnstoff	Bz	Kreatinin mg/ml	Δ Serum	Δ Urin	NAGA Serum	NAGA Urin
1	32	m	1,2	22	78	1,53	0,372	0,029	519	17
2	56	w	0,9	17	96	0,62	0,277	0,037	440	53
3	55	w	1,1	21	103	0,30	0,349	0,024	553	71
4	78	m	1,0	18	87	2,80	0,234	0,224	371	70
5	63	m	0,8	16	73	1,10	0,280	0,135	442	108
6	36	m	1,2	24	102	0,54	0,304	0,098	482	160
7	55	m	1,3	22	101	1,12	0,279	0,250	442	196
8	65	w	1,1	20	65	0,30	0,281	0,065	446	190
9	41	w	1,0	21	73	1,50	0,233	0,226	370	132
10	63	w	0,9	17	77	1,07	0,287	0,171	455	140
11	71	m	0,8	15	98	1,15	0,177	0,069	281	53
12	55	m	0,9	11	107	2,01	0,229	0,353	364	154
13	61	m	1,2	14	82	1,95	0,315	0,396	499	178
14	53	m	1,1	18	115	1,23	0,253	0,071	402	51
15	63	w	1,2	20	91	1,65	0,152	0,120	241	64
16	58	w	1,4	26	102	0,49	0,355	0,052	562	95
17	77	w	1,2	17	83	0,14	0,241	0,014	383	92

18	77	w	1,1	21	64	0,60	0,238	0,041	377	60
19	62	m	1,0	18	114	0,41	0,240	0,110	381	96,5
20	45	m	1,0	15	72	0,30	0,243	0,013	385	52
21	71	w	0,9	10	108	0,30	0,211	0,032	335	95
22	53	w	0,8	14	87	0,38	0,363	0,040	576	92
23	58	m	1,2	19	103	0,56	0,198	0,150	314	235
24	48	m	1,2	26	93	1,04	0,266	0,024	422	21
25	47	w	0,9	17	73	1,05	0,225	0,165	356	141
26	28	m	0,8	11	101	0,66	0,185	0,070	294	94
27	37	w	0,9	15	92	1,10	0,267	0,053	421	42
28	46	m	1,0	19	97	1,06	0,262	0,082	413	68
29	55	w	1,1	21	104	0,58	0,226	0,066	356	100
30	43	m	1,2	21	63	1,09	0,294	0,127	463	102
31	80	w	1,3	27	72	1,15	0,273	0,101	430	77
32	77	m	1,0	16	61	1,11	0,261	6,104	411	80

Literaturverzeichnis

1. Adlersberg D., Schaefer L.E., Steinberg A.G.,
ang C.I.:
ge, sex, serum lipids, and coronary athero-
sclerosis
Jama (1956), 62: 619-622
2. Andreani D., di Mario U., Lavicoli M., Pozzilli P.,
Lumbrosco B., Guy U., Irvine W.J.:
Immune complexes and diabetic retinopathy
Diabetologia (1978) 15: 215-218
3. Ballentyne A.J., Loewenstein A.:
Pathology of diabetic retinopathy
Trans. ophthal. Soc. U.K. (1943) 63: 95-98
4. Belfiore F., Napoli E., Vecchio L.L.:
Serum N-acetyl-beta-glucosaminidase activity
in diabetic patients
Diabetes (1972) 21: 1168-1172
5. Belfiore F., Vechio L.L., Napoli E.:
Serum enzymes in diabetes mellitus.
Clin. chem. (1972) 19: 447-451
6. Belfiore F., Vecchio l.l., Napoli E.:
Serum glucoronidase activity in diabetic
patients.
Am. J. Med. Sc. (1972) 457-465
7. Belfiore F., Napoli E., Vecchio L.L., Rabuazzo A.M.:
Increased serum activity of beta-n-acetyl-
-glucosaminidase in athersclerosis
Am. J. Med. Sc. (1974) 268:235-239

8. Berkmann J., Rifkin H., Ross G.:
The serum polysaccharides in diabetic patients
with and without degenerative vascular disease.
J. Clin. Invest. (1953) 32: 415-421
9. Bloodworth J.M.B. Jr.,:
Diabetic microangiopathy
Diabetes (1963) 12: 99
10. Bomback F. M., Nakagawa S., Kumin S., Nitowsky H.M.:
Altered lysosomal glycohydrolase activities
in juvenile diabetes mellitus.
Diabetes (1976) 25: 420-427
11. Borthwick L.J., Whiting P.H.:
Beta-N-Acetyl-Glucosaminidase in diabetes
mellitus.
Diabetologia (1978) 15: 221
12. Brouhard B.H., La Grone L., Travis L.B.,
Pollard T.G.:
Response of urinary N-acetyl- β -D-glucosaminidase
to rapid decreases in blood glucose.
Clin. Chim. Acta (1984) 140: 197-202
13. Dance N., Price R.G., Robinson R.D. and
Shirling J.C.:
Beta-galactosidase, beta-glucosidase and
N-acetyl-beta-glucosidase in human kidney.
Clin. Chim. Acta (1969) 24: 189-197

14. Dance N., Price R.G., Cattell W.R., Landsell J., Richards B.:
The excretion of N-acetyl-beta-glucosaminidase and beta-galactosidase by patients with renal disease.
Clin. Chim. Acta (1970) 27: 87-92
15. Dohrmann R.:
Die beta-Glucoronidaseaktivität im Serum bei einigen inneren Krankheiten.
Z. Ges. Exp. Med. (1960) 132: 585-593
16. de Duve C.:
The Participation of Lysosomes in the Transformation of smooth muscle cells to foamy cells in the Aorta of cholesterol-fed rabbits.
Acta Cardiol. (1974) 20: 9-25
17. Ellis E.N., Brouhard B.H., La Grone L.:
Urinary N-acetyl-beta-D-glucosaminidase in streptozotocin-induced rats.
Biochem. Med. (1984) 31: 303-310
18. Ellis E.N., Brouhard B.H., La Grone L., Travis L.B.:
Urinary excretion of N-acetyl-beta-D-glucosaminidase in children with Type I diabetes mellitus.
Diabetes Care (1983) 6: 251-255
19. Friedenwald J.S.:
Diabetic retinopathy.
Am. J. Ophthalm. (1950) 33: 1187-1199
20. Frigerio R.:
N-acetyl-beta-D-glucosaminidase levels.
Scand. J. Haematol. (1984) 33: 252-255

21. Fushimi H., Tarui S.:
Kidney and serum N-acetylglucosaminidase activities in streptozotocin diabetic rats and their responses to insulin and glucagon.
J. Biochem. (1974) 76: 225-227
22. Fushimi H., Tarui S.:
Retina, tear and serum beta-acetylglucosaminidase activities in diabetic patients
Cli. Chim. Acta (1976) 71: 1-8
23. Fushimi H., Ischhiara K., Tarui S., Nishikawa M.:
Increase of urinary and tissues hexosamine in streptozotocin diabetic rats.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. (1974) 145: 302-304
24. Fushimi H. Tarui S.:
Beta-glucosidases and diabetic corangiopathy I. Decreases of beta-glucosidase activity in diabetic rat kidney II.
J. Biochem. (1976) 79: 265-270
25. Hagenfeldt L., Wahlberg F.:
Serum beta-glucoronidase, glucose tolerance and artherosklerotic disease.
Lancet (1965) I: 788
26. Henze K., Goebel F.D., Zöllner N.:
B-N-Acetylglucosaminidase bei Patienten mit Diabetes mellitus. Beziehung zur diabetischen Mikroangiopathie. Verhandlungen der dt. Gesellschaft f. Inn. Medizin (1983) 89: 692-695

27. Henze, K., Chait A.:
Use of Circulating Mononuclear Cells to study the
Effect of Metabolic Changes on Lysosomal Enzyme
Activities and Low Density Lipoprotein Receptors:
Effect of Insulin Therapy in Diabetic Patients.
Diabetologia (1981) 20: 625-629
28. Holland L.J., Felix R.H., Alston W.C.:
Serum N-acetyl-beta-glucosaminidase and circulating
immune complex activity in systemic lupus
erythematosus.
Br. Med. J. (1978) I: 1027
29. Hultberg B., Norden N., Öckermann P.A.:
Urinary excretion of acid hydrolases in disease.
Scand. J. of Clin. and Lab. Inv. (1972) 30: 214-216
30. Juretic D., Lipovae K., Hadzija M., Slijepcevic M.:
Activities of glycosidases in diabetic rats.
Diabetologia (1978) 15: 213-216
31. Kind P.R.N.:
N-Acetyl- β -D-glucosaminidase in urine of patients
with renal disease, and after renal transplants
and surgery.
Clin. Chim. Acta (1982) 119: 89-97
32. Lakuta D.J., Blomquist C.H., Haus D.:
Circadian Rhythm in Urinary N-Acetyl- β -Glucosaminidase
of Clinically healthy Subjects
A.J.C.P. (1982) 78: 69-77

33. Mahadeven S., Dillard C.J., Tappel A.L.:
Degradation of polysaccharides, mucopolysaccharides
and glycoproteins by lysosomal glycosidases.
Arch. Biochem. Biophys. (1969) 129: 525
34. Mansell M.A., Jones N.F., Ziroyannis P.N., Marson W.S.
N-Acetyl-beta-D-Glucosaminidase: A new approach
to the screening of hypertensive patients for
renal disease.
Lancet (1978) 14: 803-805
35. Mansel M.A., Jones F., Ziroyannis P.N., Tucker T.S.M.
Detecting of renal artery stenosis by measuring
urinary N-acetyl-beta-D-glucosaminidase.
Britisch Med. J. (18. Feb. 1978) 414-415
36. Merimee T.J., Kennedy A.L., Mehl T.D., And
Rosenbloom A.:
Serum Glycosidase Activity in Diabetes mellitus.
Diabetes (Feb. 1981) 30: 115-118
37. Miller B., Keyes F.P., Curreri P.W.:
Increase of serum beta-glucoronidase activity
in diabetes mellitus
J. Am. Med. Assoc. (1966) Vol 195 3: 127-130
38. Miller B., Keyes F.P., Curreri P.W.:
Serum beta-glucoronidase activity of various
spezies. Possible correlation with susceptibility
of arterosclerosis.
Proceedings os the Society for Experimental
Biology and Medicine (1965) 119: 1129-1133

39. Miralles J.M., Corrales J.J., Garcia-Diez L.C., Cabezas J.A., and Reglero A.:
N-Acetyl β -D-glucosaminidase and alpha-L-fucosidase activities in relation to glycosylated hemoglobin levels and to retinopathy in diabetes.
Clin. Chim. Acta (1982) 121: 373-378
40. Noble R.E., Najarian J.S., Brainerd H.D.:
Urin and serum lysozyme measurement in renal homotransplantation.
Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine (1965) 120: 737
41. Nomura K.:
Serum N-acetyl- β -D-glucosaminidase in a large population- a useful index of cardiovascular impairment
Jpn Circ. J. (1985) 49: 68-74
42. Oberkotter L.V., Tenore A., Palmieri J.M., Koldovsky O.:
Relationship of thyroid status and serum N-acetyl- β -Glucosaminidase isoenzyme activities in humans.
Clin. Chim. Acta (1979) 94: 281-286
43. Patrick R.S., Walker F.:
The glucosamine content of human umbilical cord jelly in normal and diabetic pregnancy.
Diabetologia (1980) 5: 29-33
44. Pitkänen E., Kyllästinen M., Koivula T., Hormila P.:
Beta-N-acetylglucosaminidase and beta-glucuronidase activities in insulin-dependent diabetic subjects with retinopathy.
Diabetologia (1980) 18: 275-278

45. Pitkänen E., Järvisalo J., Harlanne A., Koivula T.:
Serum β -N-Acetylglucosaminidase isoenzymes
in insulin-dependent diabetes mellitus.
Enzyme (1982) 28: 14-17
46. Poon P.Y.W., Davis T.M.E., Dornan T.L., Turner R.C.:
Plasma N-Acetyl- β ,D-glucosaminidase activities
and glycaemia in diabetes mellitus.
Diabetologia (1983) 24: 433-436
47. Price R.G., Dance N., Richards B., Cattell W.R.:
The excretion of N-acetyl-beta-glucosaminidase
and beta-galactosidase following surgery of the
kidney.
Clin. Chim. Acta (1970) 27: 65-72
48. Robinson D.:
Survey of coronary care facilities in 50
Massachusetts hospitals.
7th International Congress of Clin. Chemistry
(1970) Vol 1, p 42. Basel, Karger
49. Sato T., Munakata H., Yoshinaga K., Yoshizawa Z.:
Comparison of the chemical composition of
glomerular and tubular basement membranes obtained
from human kidneys of diabetics and non-diabetics.
Clin.Chim.Acta (1975) 61: 145-150
50. Schmidt M.T., Duncan B.B., Gitelman H.J.,
Gioynne J.T., Finn W.F.:
High levels of urinary N-acetyl-beta-D-glucos-
aminidase (NAG) in children with diabetes:
frequency and correlation with glucose control.
Diabetes (1983) 32: 30A

51. Simon G.:
Increased serum and urinary N-acetyl-beta-D-glucosaminidase in human hypertension: early indicator of renal dysfunction.
Clin. Exp. Hypertens. (A) (1984) 6: 879-896
52. Spiro F.G.:
Role of insulin in two pathways of glucose metabolism: in vivo glucosamin and glycogen synthesis.
N.Y.Acad. Sci. (1959) 82: 366-373
53. Test Combination Creatinin Best.Nr. 124 192
Boehringer Mannheim GmbH.
54. Tucker S.M., Boyd P.J.R., Thompson A.E.,
Price R.G.:
Automated assay of N-acetyl-beta-glucosaminidase in normal and pathological human urine.
Clin Chim.Acta (1975) 62: 333-339
55. Tulsiani D.R.P., Buschiazzi H.O., Tolbert B.,
Touster O.:
Changes in plasma hydrolase activities in hereditary and streptozotocin-induced diabetes.
Arch. Biochem Biophys. (1977) 181: 216-227
56. Walker F., Patrick R.S.:
Effect of insulin on the hexosamine content of alloxan diabetic rabbit vitreous tumor
Diabetes (1968) 17: 105-107

57. Wellwood J.M., Ellis B.G., Price R.G.,
Hammond K., Thompson A.E., Jones N.F.:
Urinary N-Acetyl-beta-D-glucosaminidase
activities in patients with renal disease.
Brit. Med. J. (1975) 3: 408-411
58. Wellwood J.M., Ellis B.G., Hall J.H.,
Robinson D.R., Thompson A.E.:
Early warning of rejection?
Brit. Med. J. (1973) 3: 261-265
59. Westberg N.G.:
Biochemical alterations of human glomerular
basement membrane
Diabetes (1976) 25(2): 920-924
60. Whiting H., Ross I.S., Borthwick L.:
Serum and urine N-acetyl-beta-D-glucosami-
nidase in diabetics on diagnosis and
subsequent treatment and stable insulin
dependent diabetics.
Clin. Chi. Acta (1979) 92: 459-463
61. Whiting P.H., Ross I.S., Borthwick L.:
N-acetyl-beta-D-glucosaminidase levels and
diabetic microangiopathy.
Clin. Chim. Acta (1979) 97: 191-195
62. Wolinsky H., Goldfisher S., Schiler B.:
Lysosomes in Aortic Smooth Muscle Cells:
Effects of Hyperertension
Am. J. Pathol. (1973) 73: 727-734

63. Wolinsky H., Goldfisher S., Capron L.:
Hydrolase activities in the rat aorta.
Effects of diabetes mellitus and insulin
treatment.
Circ. Res. (1978) 42: 821-830
64. Woolen J.W., Turner P.:
Plasma N-acetyl-beta-glucosaminidase and
beta-glucoronidase in health and disease.
65. Woolen J.W., Turner P.:
Serum beta-glucoronidase, glucose tolerance
and atherosclerotic disease.
The Lancet (1965) 1071-1072

Danksagung

Für die Überlassung des Themas und
die stete Unterstützung möchte ich
Herrn Prof. Dr. N. Zöllner und
Herrn Prof. Dr. F.D. Goebel, sowie
Herrn Dr. K. Henze
herzlich danken.

Lebenslauf

Karl-Heinz Roßmann, geb. am 4.11.1957 in
Waidhaus Krs. Neustadt als Sohn des Alois
Roßmann und seiner Ehefrau Anna, geb. Vogl.

- | | |
|-------------|--|
| 1964 - 1968 | Grundschule Implersstraße in München |
| 1968 - 1978 | Besuch des mathematisch-naturwissen-
schaftlichen Klenze-Gymnasiums in
München |
| 1978 - 1979 | Zivildienst in München |
| 1979 - 1986 | Studium der Humanmedizin an der
Ludwig-Maximilians-Universität
in München |

